

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗАМИНА,
ПОЛУЧЕННОГО В РЕЗУЛЬТАТЕ ГИДРОЛИЗА
N-АЦЕТИЛИРОВАННОГО ХИТОЗАНА
ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ ФЕРМЕНТАМИ**

Любякина П.Н., Лизунова Е.Е., Тамбасова Д.П., Ковалева Е.Г.

Уральский федеральный университет
620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

Одним из перспективных направлений за последнее время является изучение способов переработки хитина и его производного хитозана с целью создания на их основе БАВ и медицинских препаратов. Хитин (хитозан) является источником промышленного получения вещества, обладающего противоартрозной активностью, глюкозамина. В тоже время получение полимеров в промышленных масштабах в первую очередь связано с утилизацией отходов, так как хитин входит в состав панцирей ракообразных, скелета насекомых и мицелия грибов. Наиболее перспективный и экологичный способ получения глюкозамина, основан на ферментативном гидролизе. Однако применение в промышленности ферментов ограничивается их дороговизной, этот недостаток устраняется при использовании иммобилизованных ферментов за счет возможности многократного использования.

Целью данной работы является разработка методики спектрофотометрического определения глюкозамина, полученного в результате гидролиза N-ацетилюрованного хитозана ферментами хитозаназой и лизоцимом, иммобилизованными на порошковом $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$.

Иммобилизация хитозаназы и лизоцима проводилась на $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ двумя способами: физической адсорбцией и с помощью сшивающего агента - глутарового альдегида. $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ представляет собой порошок с удельной поверхностью $204 \text{ м}^2/\text{г}$ и со средним диаметром частиц $2,60 \text{ мкм}$. Электроповерхностные свойства были охарактеризованы методом ЭПР с помощью спиновых зондов – рН-чувствительных нитроксильных радикалов.

Реакция гидролиза N-ацетилюрованного хитозана со степенью ацетилирования 18 % проводилась при рН=5 и температуре 37°C в течение суток при его многократном (в 4 циклах) использовании. Также была проведена реакция гидролиза N-ацетилюрованного хитозана при использовании иммобилизованного лизоцима в аналогичных условиях. Оценка каталитической активности ферментов проводилась по концентрации глюкозамина в гидролизате при длине волны 540 нм спектрофотометрическим методом по модифицированной методике Эльсона-Моргана. Наибольший выход глюкозамина был получен при использовании хитозаназы, иммобилизованного на носителе физической адсорбцией, и составил 1,84 % (концентрация глюкозамина $0,21 \text{ мг/мл}$), в 2 цикле операционная стабильность достигла 71,43 % (концентрация глюкозамина $0,14 \text{ мг/мл}$), снижаясь в 3 цикле до 69,05 % (концентрация глюкозамина $0,139 \text{ мг/мл}$) и стабилизируясь в 4 цикле.